

تحقیقی

مقایسه تعداد فیبرهای عصبی، سلول‌های شوان و ماست سل‌ها در آپاندیسیت حاد، بیماران با درد RLQ غیر آپاندیسی و آپاندکتومی اتفاقی

دکتر محمد رضا جلالی ندوشن^۱، دکتر مهدیه مرادی^۲، دکتر حسن محمد حسینی اکبری^۳، نادر فلاح^۴
۱- دانشیار آسیب‌شناسی دانشگاه شاهد. ۲- پزشک عمومی. ۳- استادیار آسیب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله الاعظم (عج).
۴- عضو هیأت علمی گروه پزشکی اجتماعی دانشگاه شاهد.

چکیده

زمینه و هدف: آپاندیسیت شایع‌ترین جراحی شکم حاد است که در حال حاضر پاتوژنز آن به درستی مشخص نیست. شواهد فزاینده‌ای مبنی بر درگیری سیستم عصبی در تنظیم ایمنی و پاسخ‌های التهابی وجود دارد. در این مطالعه وضعیت سیستم عصبی و ماست سل‌های روده‌ای در آپاندیس‌های طبیعی و ملتهب ارزیابی گردید.

روش بررسی: این مطالعه توصیفی روی ۴۵ نمونه آپاندیس بیمارانی که طی سال‌های ۷۹ لغایت پایان اسفند ماه ۸۰ در مرکز پزشکی آموزشی درمانی شهید مصطفی خمینی تهران تحت عمل آپاندکتومی قرار گرفته بودند، انجام شد. بیماران به سه گروه ۱۵ نفره آپاندیسیت حاد با علائم بالینی و پاتولوژی، آپاندیسیت حاد از نظر بالینی بدون یافته‌های هیستولوژی و آپاندیس طبیعی به عنوان گروه کنترل تقسیم شدند. نمونه‌ها با روش ایمونوهیستوشیمی برای مارکرهای سیناپتوفیزین به منظور مشاهده فیبرهای عصبی، S100 برای بررسی سلول‌های شوان و نیز به روش هیستوشیمی رنگ‌آمیزی تولوئیدن بلو برای مشاهده ماست سل‌ها بررسی شدند. سپس تعداد فیبرهای عصبی، سلول‌های شوان در زیر مخاط و لایه عضلانی و تعداد ماست سل‌ها در زیر مخاط در ۲۰ میدان میکروسکوپی شمارش و میانگین تعداد در هر میدان با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ تعیین گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها: در مطالعه انجام شده اختلاف معنی‌داری از نظر وجود سلول‌های عصبی شوان، فیبر عصبی و سلول ایمنی ماست سل بین سه گروه وجود داشت. بدین ترتیب که در گروه اول در مقایسه با دو گروه بعدی خصوصاً گروه کنترل افزایش داشت ($P < 0.05$). آزمون تکمیلی دانکن نشان داد که در مورد متوسط سلول‌های شوان در زیر مخاط و لایه عضلانی و همچنین تعداد ماست سل‌ها در زیر مخاط از لحاظ آماری در سه سطح جداگانه قرار داشتند. اما در مورد متوسط تعداد فیبرهای عصبی در زیرمخاط و لایه عضلانی گروه اول در یک سطح و گروه دوم و سوم در یک سطح قرار داشتند.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که افزایش واضح در اجزاء عصبی و ماست سل‌ها در آپاندیسیت حاد بیانگر این مطلب است که ارتباطی عملکردی بین سیستم عصبی روده، ماست سل‌ها و پاتوژنز آپاندیسیت حاد وجود دارد. اگر چه مکانیسم واقعی هنوز مشخص نمی‌باشد.

کلید واژه‌ها: آپاندیسیت، پاتوژنز، ماست سل، سلول شوان، فیبر عصبی

نویسنده مسؤول: دکتر محمد رضا جلالی ندوشن، پست الکترونیکی: jalali@shahed.ac.ir

نشانی: تهران، بلوار کشاورز، خیابان شهیدعبدالله زاده، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تلفن: ۰۲۱-۸۸۹۶۳۵۰۸، نامبر: ۸۸۹۶۳۱۰

وصول مقاله: ۸۶/۱/۲۹، اصلاح نهایی: ۸۶/۱/۱۰، پذیرش مقاله: ۸۶/۹/۲۷

مقدمه

آپاندیسیت شایع‌ترین جراحی شکم حاد است (۱). ۶ تا ۲۰ درصد افراد جامعه در طول زندگی به آپاندیسیت مبتلا می‌شوند و از هر ۶ نفر یک نفر تحت عمل جراحی قرار می‌گیرد (۲)، ولی مکانیسم ایجاد آن هنوز مشخص نیست.

امروزه شواهد روزافزونی وجود دارد که سیستم‌های عصبی و ایمنی در ارگان‌های مختلف در عملکرد یکدیگر تأثیر دارند و این مسأله به خصوص در روده حائز اهمیت می‌باشد. از آنجا که آپاندیسیت یکی از بیماری‌های التهابی با دخالت سیستم ایمنی است، در مکانیسم ایجاد این بیماری سیستم عصبی هم می‌تواند، نقش مهمی داشته باشد. این موضوع در بیماری‌های التهابی گوارشی مزمن مثل بیماری کرون و کولیت اولسرو به اثبات رسیده است (۲). همچنین مطالعات دیگر در سایر ارگان‌ها نیز نقش نورون‌ها را در واکنش‌های التهابی نشان داده است. به عنوان مثال فیبرهای عصبی یک تا دو هفته پس از یک زخم پوستی سطحی افزایش پیدا می‌کنند (۳). یا در ضایعات التهابی و نکروز دندان نیز افزایش انشعابات آکسونی دیده شده است (۴). در مطالعه دیگری مشخص شد که دانسیته فیبرهای عصبی ارتباط مستقیمی با تغییرات هیستولوژیک التهاب روده دارند. مجموعه این اطلاعات بیانگر این است که فیبرهای عصبی که در حالت فیزیولوژیک پایدار و بدون تقسیم و تکثیر هستند، در شرایط خاصی مثل التهاب یا آسیب می‌توانند تکثیر یابند (۵و۶).

علاوه بر این در حال حاضر شواهد فزاینده‌ای مبنی بر ارتباط تنگاتنگ سیستم ایمنی و دستگاه عصبی به خصوص در روده وجود دارد و عقیده بر این است که دستگاه عصبی در تنظیم واکنش ایمنی در دستگاه گوارش نقش مهمی را ایفا می‌کند (۷-۹). از جمله این شواهد وجود گیرنده برای نوروپپتیدها روی سلول‌های ایمنی گوارش است (۲).

هدف از انجام این مطالعه بررسی کمی تعداد فیبرهای عصبی، سلول‌های شوان و ماست سل‌ها در سه گروه آپاندیسیت حاد با علائم بالینی و آسیب‌شناسی، آپاندیسیت حاد از نظر بالینی بدون یافته‌های هیستولوژی و آپاندیس طبیعی (گروه کنترل) بود.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی روی ۴۵ نمونه آپاندیس بیمارانی که طی سال‌های ۷۹ لغایت پایان اسفند ماه ۸۰ در مرکز پزشکی آموزشی درمانی شهید مصطفی خمینی تهران تحت عمل آپاندکتومی قرار گرفته بودند، انجام شد. معیار انتخاب بیماران سن زیر ۱۵ سال بود، زیرا بعد از سن بلوغ بافت لنفاوی آپاندیس آتروفی شده و به تدریج بافت فیروز جایگزین آن می‌گردد. بیماران به سه گروه تقسیم شدند. گروه اول (۱۵ نفر) بیمارانی بودند که به علت علائم بالینی آپاندیسیت تحت عمل جراحی قرار گرفته بودند و بررسی هیستوپاتولوژی نیز تشخیص را تأیید کرده بود. موارد آپاندیس پرفوره و گانگرنه به علت بهم‌ریختگی ساختمان بافتی از مطالعه خارج شدند. گروه دوم (۱۵ نفر) افرادی بودند که با علائم بالینی آپاندیسیت مراجعه نموده، ولی یافته‌های هیستولوژی این تشخیص را تأیید نکرده بود و گروه سوم یا گروه کنترل (۱۵ نفر) کسانی بودند که به علت بیماری دیگری تحت عمل جراحی شکم و آپاندکتومی Incidental قرار گرفته بودند.

پس از ثابت کردن نمونه‌ها در فرمالین بافره ۱۰ درصد طبق روش معمول از قسمت دیستال برش طولی و از قسمت میانی و پروگزیمال برش عرضی داده شد. مراحل آماده سازی (Processing) بافت طبق روش روتین انجام شد و برش‌ها در پارافین قالب‌گیری شدند. سپس به وسیله دستگاه میکروتوم روی نمونه‌ها برش‌های سه میکرونی داده شد و رنگ آمیزی هماتوکسیلین - اتوزین انجام و تشخیص هیستوپاتولوژی داده شد. علاوه بر این سه برش بافتی سه میکرونی دیگر از بلوک‌های پارافینی داده شد که دو برش آن با روش ایمونوهیستوشیمی برای مارک‌های سیناپتوفیزین به منظور مطالعه فیبرهای عصبی، S100 برای مشاهده سلول‌های شوان و در یک برش دیگر به وسیله روش هیستوشیمی برای مشاهده ماست سل‌ها رنگ آمیزی تولوئیدن بلو انجام شد. سپس تعداد فیبرهای عصبی، سلول‌های شوان در زیر مخاط و لایه عضلانی و تعداد ماست سل‌ها در زیر مخاط در حداقل ۲۰ میدان میکروسکوپی شمارش و متوسط تعداد سلول‌ها در هر میدان میکروسکوپی با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ تعیین گردید. داده‌ها به دست آمده در فرم‌های تهیه شده وارد گردید و به وسیله

جدول ۱: میانگین سلول‌های شوان و فیبر عصبی در زیر مخاط و لایه عضلانی و ماست سل در زیر مخاط

| سلول | سلول شوان | | فیبر عصبی | | ماست سل |
|--------|------------|-------------|-----------|-------------|------------|
| | زیر مخاط | لایه عضلانی | زیر مخاط | لایه عضلانی | |
| گروه ۱ | ۴/۵۸±۱/۰۸ | ۱۰/۰۹±۲/۹۰ | ۰/۴۲±۰/۱۳ | ۰/۶۶±۰/۰۲ | ۷/۵۹±۱/۵۴ |
| گروه ۲ | ۱۰/۴۰±۱/۵۹ | ۵/۲۳±۰/۸۳ | ۰/۲۹±۰/۱۰ | ۰/۴۳±۰/۱۲ | ۱۰/۹۰±۲/۴۵ |
| گروه ۳ | ۱۰/۷۳±۲/۲۶ | ۲/۸۲±۰/۸۷ | ۰/۲۶±۰/۱۲ | ۰/۳۲±۰/۱۵ | ۱۴/۳۱±۲/۸۱ |

گروه ۱: آپاندیسیت با تشخیص بالینی و تایید هیستولوژی

گروه ۲: آپاندیسیت از نظر بالینی ولی با هیستولوژی طبیعی، گروه ۳: آپاندیس طبیعی

بحث

تعداد سلول‌های عصبی اختلاف معنی‌داری در گروه‌های مورد مطالعه ما داشت. این نکته حائز اهمیت می‌باشد که حتی گروهی که علائم بالینی داشت، ولی پاتولوژی تشخیص آپاندیسیت را تایید نکرده بود، تعداد سلول‌ها در مقایسه با گروه کنترل بالاتر بود و رابطه بین آنها معنی‌دار شد. بهترین توجیه برای این یافته این است که پدیده آپاندیسیت یک روند مزمن داشته یا حملات تکرار شونده‌ای دارد که یکی از این حملات منجر به علائم بالینی و عمل جراحی می‌گردد. در مواردی که آسیب‌شناسی آپاندیسیت را گزارش نکرده، شدت تغییرات در حدی نبوده که منجر به یافته‌های هیستولوژی لازم از نظر پاتولوژی برای آپاندیسیت گردد، ولی ضایعه التهابی مزمنی در آپاندیس وجود دارد. این یافته در مطالعه Xiong نیز نشان داده شده است (۲). اگرچه در مطالعه وی تعداد بیماران مورد مطالعه کمتر از مطالعه ما بود، ولی استفاده از سیستم‌های هوشمند شمارش سلولی نقطه قوت مطالعه وی در مقایسه با مطالعه ما می‌باشد و در مجموع این دو مطالعه می‌تواند مؤید یکدیگر باشند.

یافته دیگر اختلاف آماری معنی‌دار در تعداد ماست سل در گروه‌های مورد مطالعه بود که مشابه نتایج Xiong می‌باشد (۲). توجیه این یافته نیز می‌تواند مشابه توجیه افزایش تعداد سلول‌های عصبی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه باشد. همچنین در تایید یافته‌های این دو مطالعه بررسی دیگری که به وسیله Wany انجام شده، نشان داده که در ۲۲ درصد موارد وجود آپاندیسیت که پاتولوژی تایید کننده نیست، TNFα و IL-2 افزایش داشته است که بیانگر درگیر شدن سیستم ایمنی در بیماری علی‌رغم عدم وجود یافته‌های آسیب‌شناسی

روش‌های آماری آنالیز واریانس و آزمون دانکن در نرم‌افزار آماری SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. ضریب اطمینان مطالعه ۹۵ درصد ($\alpha=0/05$) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بیماران مورد مطالعه شامل ۲۴ نفر (۵۳/۳ درصد) مذکر و ۲۱ نفر (۴۶/۷ درصد) مؤنث بودند. نسبت فراوانی مذکر به مؤنث برابر با ۱/۱۴ بود.

میانگین سنی بیماران در کل $10/86 \pm 2/18$ به دست آمد که کمترین سن ۸ و بیشترین آن ۱۵ سال بود. از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین سه گروه وجود نداشت. بنابراین سن به عنوان یک عامل مخدوش کننده مطرح نمی‌شد.

میانگین تعداد سلول‌های شوان و فیبرهای عصبی در لایه‌های زیرمخاط و عضلانی و تعداد ماست سل‌ها در زیر مخاط در سه گروه در جدول یک آمده است.

آزمون آماری آنالیز واریانس اختلاف آماری معنی‌داری از نظر وجود سلول‌های عصبی شوان، فیبرهای عصبی و سلول ایمنی ماست سل نشان داد. به طوری که تعداد این سلول‌ها در گروه اول که آپاندیسیت حاد داشتند، در مقایسه با دو گروه دیگر خصوصاً گروه کنترل افزایش داشت ($P < 0/05$).

آزمون تکمیلی دانکن در رابطه با متوسط تعداد سلول‌های شوان در زیر مخاط و لایه عضلانی نشان داد که سه گروه از لحاظ آماری در سه سطح جداگانه قرار داشتند. در مورد متوسط تعداد فیبرهای عصبی در زیر مخاط و لایه عضلانی گروه اول از لحاظ آماری در یک سطح و گروه دوم و سوم در یک سطح قرار داشتند. در رابطه با متوسط تعداد ماست سل‌ها سه گروه از لحاظ آماری در سه سطح جداگانه قرار داشتند.

مطالعه ما را تایید می‌کند و با توجه به تعداد زیاد نمونه مورد مطالعه توسط آنها، ارزش نتیجه مطالعه ما دو چندان می‌گردد.

نتیجه‌گیری

افزایش قابل توجه در اجزاء عصبی و ماست سل‌ها بیانگر این مطلب است که ارتباطی عملکردی بین سیستم عصبی روده و ماست سل‌ها در پاتوژنز آپاندیسیت حاد وجود دارد. با توجه به این که مکانیسم واقعی هنوز مشخص نمی‌باشد، مطالعات کامل‌تر و دقیق‌تری با بررسی نوروترانسمیترها و مواد مترشحه به وسیله ماست سل‌ها برای بررسی دقیق پاتوژنز آپاندیسیت توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه برای اخذ دکترای پزشکی عمومی بود که در شورای پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد به تصویب رسید.

References

- 1) Kozar RA, Roslyn J. The Appendix. In: Schwatz SI, Shines GT, Spencer FC, Daly JM, Fisher JE, Galloway AC. Principles of surgery. 7th Ed. vol II. New York. McGraw Hill. 1999; pp:1383-5.
- 2) Xiong S, Puri P, Nemeth L, O'Briain DS, Reen DJ. Neuronal hypertrophy in acute appendicitis. *Arch Pathol Lab Med.* 2000; 124(10):1429-33.
- 3) Hermanson A, Dalsgaard CJ, Björklund H, Lindblom U. Sensory reinnervation and sensibility after superficial skin wounds in human patients. *Neurosci Lett.* 1987;74(3):377-82.
- 4) Holland GR. Periapical neural changes after pulpectomy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995; 80(6):726-34.
- 5) Keränen U, Järvinen H, Kärkkäinen P, Kiviluoto T, Kivilaakso E, Soinila S. Substance P--an underlying factor for pouchitis? Prospective study of substance P- and vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive innervation and mast cells. *Dig Dis Sci.* 1996;41(8):1665-71.
- 6) Todorovic V, Janic B, Koko V, Micev M, Nikolic JA, Ratkovic M, et al. Colonic vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in ulcerative colitis--a radioimmunoassay and immunohistochemical study. *Hepatogastroenterology.* 1996; 43(9): 483-8.

میکروسکوپی است (۱۰). همچنین از نظر هیستولوژی مشخص شده که ماست سل‌ها ارتباط نزدیکی با اعصاب محیطی دارند (۱۱و۱۲).

Coksun ۲۵ نمونه آپاندیسیت و ۱۲ آپاندیس طبیعی را از نظر دانسیته ماست سل، نورون و سلول‌های شوان مورد بررسی قرار داد و نتیجه گرفت که تعداد هر سه نوع سلول اختلاف آماری معنی‌داری بین دو گروه دارد (۷). علاوه بر این که نتایج این مطالعه تایید کننده نتایج ما می‌باشد، نقطه قوت آن تحقیق بررسی ماست سل‌ها با رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی در مقایسه با مطالعه ما که هیستوشیمی بود، می‌باشد (۷).

Mysorecar ماست سل را در آپاندیس طبیعی و آپاندیسیت به وسیله هیستوشیمیایی با رنگ آمیزی تولوئیدن بلو مورد بررسی قرار داد و دریافت که اختلاف آماری معنی‌دار بین تعداد ماست سل در دو گروه وجود دارد (۸). این یافته نتیجه

- 7) Coskun N, Sindel M, Elpek GO. Mast cell density, neuronal hypertrophy and nerve growth factor expression in patients with acute appendicitis. *Folia Morphol (Warsz).* 2002;61(4):237-43.
- 8) Mysorekar VV, Chanda S, Dandeka CP. Mast cells in surgically resected appendices. *Indian J Pathol Microbiol.* 2006; 49(2):229-33.
- 9) Coşkun N, Indel SM, Elpek GO. Mast cell density and neuronal hypertrophy in patients with acute appendicitis. *Turk J Gastroenterol.* 2003;14(1):54-8.
- 10) Wang Y, Reen DJ, Puri P. Is a histologically normal appendix following emergency appendectomy alway normal? *Lancet.* 1996;347(9008):1076-9.
- 11) Stead RH, Franks AJ, Goldsmith CH, Bienenstock J, Dixon MF. Mast cells, nerves and fibrosis in the appendix: a morphological assessment. *J Pathol.* 1990;161(3):209-19.
- 12) Dvorak AM, McLeod RS, Onderdonk AB, Monahan-Earley RA, Cullen JB, Antonioli DA, et al. Human gut mucosal mast cells: ultrastructural observations and anatomic variation in mast cell-nerve associations in vivo. *Int Arch Allergy Immunol.* 1992; 98(2):158-68.